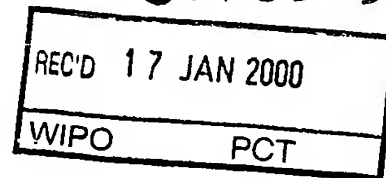


PCT/EP 99/08864  
**BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND**

097831376

E U



EP99/8864

## Bescheinigung

Herr Dr. Alfons K r u g in Gießen/Deutschland hat eine Patentanmeldung unter der Bezeichnung

„Optisches Verfahren zur Bestimmung des Sauerstoffgehaltes und des Sauerstoffverbrauchs in biologischem Gewebe“

am 18. November 1998 beim Deutschen Patent- und Markenamt eingereicht.

Das angeheftete Stück ist eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlage dieser Patentanmeldung.

Die Anmeldung hat im Deutschen Patent- und Markenamt vorläufig die Symbole A 61 B und G 01 N der Internationalen Patentklassifikation erhalten.

München, den 21. Dezember 1999

Deutsches Patent- und Markenamt

Der Präsident

Im Auftrag

Hoß

**PRIORITY  
DOCUMENT**

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

Aktenzeichen: 198 53 028.5

# G l i e d e r u n g

<b>1</b>	<b>HINTERGRUND</b>	<b>3</b>
1.1	Sauerstoffmessungen in durchbluteten Geweben	3
1.2	Grundlagen der Gewebespektrometrie	3
1.3	Die Bestimmung des Sauerstoffverbrauchs	4
<b>2</b>	<b>STAND DER TECHNIK</b>	<b>5</b>
2.1	Bestimmung der Sättigung des Hämoglobins $SO_2$ [%] im arteriellen Strombett	5
2.2	Bestimmung der Sättigung des Hämoglobins $SO_2$ [%] im kapillär-venösen Strombett und der Menge an Hämoglobin im Meßvolumen	5
2.3	Bestimmung der Größe des Meßvolumens	5
2.4	Bestimmung der Blutflußmenge und der Blutflußgeschwindigkeit	6
<b>3</b>	<b>NEUES, OPTISCHES VERFAHREN ZUR BESTIMMUNG DES SAUERSTOFFGEHALTES UND DES SAUERSTOFFVERBRAUCHS</b>	<b>6</b>
3.1	Die neue Meßvorrichtung zur Bestimmung der Sauerstoffparameter über einen optischen Sensor	6
3.2	Übersicht über die Sauerstoffparameter, die mit dem integrierten Sensor bestimmt werden können	8
3.3	Sauerstoffparameter, die mit dem integrierten Sensor ermittelt werden können	9
3.3.1	Die Bestimmung des Sauerstoffgehaltes	9
3.3.2	Berechnung des Sauerstoffumsatzes bzw. -Verbrauchs	9
3.3.3	Bestimmung der Sauerstoffverbrauchsrate	9
3.3.4	Bestimmung der lokalen Sauerstofftransportkapazität und transportierten Sauerstoffmenge	10
3.3.4.1	Die lokale Sauerstofftransportkapazität	10
3.3.4.2	Die lokal transportierte Sauerstoffmenge	10
3.4	Bestimmungsgrößen, die mit dem Gewebespektrometer zu ermitteln sind	10
3.4.1	Berechnung der Sättigung des Hämoglobins $SO_2$	10
3.4.1.1	Startroutine zur Calibrierung des Gerätes	11
3.4.1.2	Spektrale Vorverarbeitung	11
3.4.1.3	Berechnung der Hämoglobinoxygenierung im VIS und NIR Bereich	11
3.4.1.3.1	Referenzspektren für vollständig oxygeniertes und deoxygeniertes Hämoglobin	11
3.4.1.3.2	Gewebereferenzspektren	12
3.4.1.3.3	Hämoglobinkonzentrationsabhängige Referenzspektren	12
3.4.2	Berechnung des Wertes der relativen Hämoglobinkonzentration $Hb_{conc}$ im VIS	13
3.4.2.1	Bestimmung der Hämoglobinkonzentration durch Auswertung der Diffusionsnäherung der Strahlungstransportgleichung	14
3.4.2.2	Bestimmung der Hämoglobinkonzentration durch Auswertung der Rückstreuungsspektren	15
3.4.2.2.1	Oxygenierungsabhängige Korrektur der Flächen-Absorptionswerte	16
3.4.3	Berechnung des Wertes der relativen Hämoglobinkonzentration $Hb_{conc}$ im NIR	19
3.4.4	Berechnung des aktuellen Meßvolumens $V_{mess}$ im VIS und im NIR	19
3.4.5	Bestimmung der meßvolumen bezogenen Hämoglobinkonzentration $Hb_{conc/Vol}$	22
3.5	Bestimmungsgrößen, die mit dem Pulsoximeter zu bestimmen sind	22
3.5.1	Spektroskopische Bestimmung der arteriellen Sättigung des Hämoglobins	22
3.5.2	Spektrometrische Bestimmung der arteriellen Sättigung des Hämoglobins	22
<b>4</b>	<b>Patentansprüche</b>	<b>25</b>

## Patentantrag:

**Vorrichtung und Auswerteverfahren zur nicht invasiven Bestimmung des lokalen Sauerstoffverbrauchs, des Sauerstoffumsatzes und der lokal transportierten Sauerstoffmenge in durchbluteten biologischen Geweben.**

### 1 Hintergrund

#### 1.1 Sauerstoffmessungen in durchbluteten Geweben

Das Ziel der vorgestellten Erfindung ist die Bestimmung des lokalen Sauerstoffverbrauchs, des Sauerstoffumsatzes und der lokal transportierten Sauerstoffmenge in durchbluteten Geweben mit einem optischen Sensor. Der Sauerstoff ist von elementarer Bedeutung für fast alle Zellen in biologischen Geweben. In durchbluteten Geweben wird der Sauerstoff zum größten Teil in gebundener Form am Hämoglobin das in den Erythrozyten eingelagert ist von der Lunge zur den sauerstoffverbrauchenden Zellen transportiert.

Arteriell Hämoglobin im großen Körperkreislauf, das in der Lunge aufgesättigt wurde, ist fast zu 100 % mit Sauerstoff gesättigt. Im peripheren Gewebe wird der Sauerstoff dann entlang der Kapillaren an die Zellen abgegeben. Entsprechend niedrigere Sättigungen des Hämoglobins mit Sauerstoff werden in den Gewebereichen am venösen Ende der Kapillare und in den nachgeschalteten Venolen und Venen gemessen.

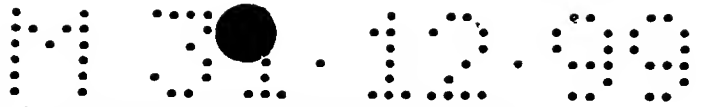
Die Messung des Sauerstoffgehalts läßt sich, dem Stand der Technik entsprechend, nur mit sehr aufwendigen Verfahren, wie NMR (Nuclear Magnetic Resonance), nicht invasiv im Gewebe durchführen. Zudem sind dynamische Messungen des Sauerstoffverbrauchs oder ein Monitoring der Sauerstoffentnahme durch die Zellatmung sind mit den NMR-Methoden bisher nicht möglich. Der energetische Metabolismus der Zellen, der eng an die der Sauerstoffaufnahme gekoppelt ist, kann nur invasiv bestimmt werden, durch Entnahme von Gewebe- oder Körperflüssigkeitsproben und anschließender biochemischer Laboranalyse der Stoffwechselprodukte. Somit sind auch mit diesen biochemischen Labormethoden keine dynamischen Messungen des Sauerstoffverbrauchs oder ein Langzeitmonitoring möglich.

#### 1.2 Grundlagen der Gewebespektrometrie

Für eine vollständige Beschreibung des Zustandes der Sauerstoffversorgung von durchbluteten Geweben müssen jedoch zusätzlich zu dem Parameter der Blutflußgeschwindigkeit auch die Blutmenge (Anzahl der roten Blutkörperchen oder auch Hämoglobinkonzentration genannt) und die Beladung der roten Blutkörperchen mit Sauerstoff (auch Hämoglobinoxygenierung oder Sättigung  $SO_2$  genannt) meßtechnisch bestimmt werden.

Die meßtechnische Erfassung der Hämoglobinoxygenierung und der Hämoglobinconcentration sind mit dem geplanten Gewebespektrometer möglich.

Die Lichtausbreitung in biologischen Medien, Streususpensionen, Gewebeschnitten und intakten Geweben und Zellstrukturen wird bestimmt durch deren optischen Eigenschaften. Die Lichtausbreitung wird dabei durch die beiden Grundphänomene, Lichtabsorption und Lichtstreuung bestimmt. Die Absorption des Lichtes oder die Abschwächung im Sinne einer Umwandlung der Lichtenergie in Licht einer höheren Wellenlänge, findet durch Wechselwirkung mit zellulären und subzellulären Strukturen, von Makromolekülen und Einzelmolekülen statt. Ein stark absorbierendes Molekül im sichtbaren Bereich der Wellenlängen, ist z. B. die Häm-Gruppe im Hämoglobin. Durch Absorption verliert sichtbares Licht einen Teil seiner Intensität auf dem Lichtweg durch das Gewebe.



Die Absorptionsmessungen des AbTisSpec beziehen sich primär auf das Hämoglobin, den roten Blutfarbstoff, der in nahezu allen Geweben auch der stärkste Absorber im sichtbaren Wellenlängenbereich ist.

Im Unterschied hierzu verliert das Licht durch elastische Streuung keine Energie. Die einlaufende elektromagnetische Welle, die mit dem Streuzentrum wechselwirkt, strahlt nach der Anregung durch die einlaufende Lichtwelle die Energie wieder in die verschiedenen Raumwinkel ab. Dabei behält das Licht seine Wellenlänge bei, nur die Ausbreitungsrichtung des Lichtes wird durch die Streuzentren verändert. Der physikalische Vorgang auf molekularer Ebene ist so vorzustellen, daß die Streupartikel durch die einlaufende Lichtwelle angeregt werden und daraufhin die Energie bei derselben Wellenlänge wieder an den Raum abgeben. Es hängt nur von der Geometrie, Form und elektromagnetischen Verteilung der Elektronenschalen des Moleküls, sowie der Struktur ab, in welche Richtungen eine Abstrahlung der Lichtenergie stattfindet.

Der einfallende, gerichtete Strahl wandelt sich auf dem Weg durch das Gewebe um in diffuse Strahlung und addiert sich zur Vorwärtsstreuung der angeregten Streuzentren. Nach multipler Multipolstreuung gelangt ein kleiner Teil der eingestrahnten Lichtintensität zur Oberfläche zurück. Die Rückwärtsabstrahlung aller Streuzentren summiert sich zur Rückwärtsstreuung. Mit den Lichtleitern an der Organoberfläche kann nur Licht detektiert werden, das rückgestreut wurde und auf seinem Lichtweg durch Absorption nicht ausgelöscht wurde. Der Lichtleiter erfaßt jedoch an der Organoberfläche nur Licht, das innerhalb der Lichtleiterapertur rückgestreut wird. Diese Vorstellung von der Lichtausbreitung ist formal beschrieben als Strahlungstransporttheorie.

Für die Illumination wird eine Weißlichtquelle (oder es werden verschiedene breitbandige LED's) verwendet. Entscheidend ist eine Lichtquelle mit hoher Leuchtdichte und einem möglichst weißen und glatten Spektrum. Das aus dem Gewebe rückgestreute Licht wird über einen Polychromator spektral zerlegt, verstärkt und nachfolgend als wellenlängenabhängiges Licht-Intensitätsmuster zur Auswertung gebracht.

Der Wellenlängenbereich von 500 bis 650 nm (VIS) ist besonders für oberflächennahe Messungen und der Wellenlängenbereich von 600 nm bis 900 nm (NIR) ist besonders für tiefenselektive Messungen auch in größeren Tiefen geeignet, da die effektive Eindringtiefe des Lichtes im NIR Wellenlängenintervall größer ist als im zuerst genannten Wellenlängenintervall und eignet sich deshalb besser für Messungen in großen Tiefen. Durch verschiedene Abstände von Illuminations- und Detektionsbereichen werden zudem unterschiedliche Meßvolumina durch die Sensorgeometrie vorgegeben. Die Kombination der Auswahl von Detektionsabständen und entsprechenden Wellenlängenintervallen kann somit klar definiert werden und erlaubt die deutliche Abgrenzung einzelner Meßvolumina gegeneinander. Für die Berechnung der Sättigungswerte wird die spektrale Form der Spektren über ein Formerkennungs- und Mischverfahren ausgewertet. Als Meßwerte erhält man tiefenselektiv die Sättigung des Hämoglobins mit  $O_2$  im kapillär-venösen Gewebett.

Vergleiche Diss. Dümmler, und Diss. Krug)

Das Meßvolumen wird bestimmt aus der Messung eines Intensitätsgradienten an der Oberfläche in Kombination mit der Bestimmung der Absorptions- und Streukoeffizienten aus den Dopplermessungen, wie auch der spektroskopischen Messungen.

Die Hämoglobinmenge läßt sich aus der Auswertung der spektrometrischen Daten gewinnen. Die Absorption hervorgerufen durch die Lichtabschwächung durch das Hämoglobin wird über ein Verfahren bestimmt, das erstmals bei Krug (Diss) beschrieben wird.

### **1.3 Die Bestimmung des Sauerstoffverbrauchs**

Für die Beschreibung der vollständigen Sauerstoffversorgungssituation bedarf es einer Vielzahl von Meßgrößen. Es muß die arterielle Sättigung und unabhängig hiervon die kapillar-venöse Sättigung des Hämoglobins bestimmt werden. Aus der Differenz von arterieller Sättigung zur Sättigung des Hämoglobins in den Kapillaren, Venolen und Venen läßt sich dann der  $O_2$ -Umsatz, bzw. die Sauerstoffaufnahme bestimmen. Verrechnet man diese Differenzmenge mit den Blutflußwerten, so ergibt sich hieraus der  $O_2$ -Verbrauch im untersuchten Gewebevolumen, der somit lokal bestimmt werden kann.

Zusammengefaßt müssen folgende Bestimmungsgrößen ermittelt werden für die Bestimmung der lokalen Sauerstoffversorgung:

1. Sättigung des Hämoglobins  $SO_2$  [%] im arteriellen Strombett
2. Sättigung des Hämoglobins  $SO_2$  [%] im kapillär-venösen Strombett
3. Menge an Hämoglobin im Meßvolumen, aus den Absorptionskoeffizienten
4. Größe des Meßvolumens, resultierend aus der Oberflächengradientenmessung, den Streukoeffizienten und den Anisotropiefaktoren.
5. Tiefenselektiv, die Blutflußmenge und die Blutflußgeschwindigkeit

Nur die Kombination dieser Meßgrößen und die Detektion über einen integrierenden Sensor, der Messungen in dem gleichen Areal garantiert, erlaubt eine Messung des lokalen Sauerstoffumsatzes von durchblutetem Gewebe.

## 2 Stand der Technik

### 2.1 Bestimmung der Sättigung des Hämoglobins $SO_2$ [%] im arteriellen Strombett

Die arterielle Sättigung kann durch sogenannte **Pulsoximeter** bestimmt werden, die jedoch nicht die Bestimmung der kapillär-venösen Hämoglobin-Sättigungswerte, der Hämoglobinkonzentration im Meßvolumen oder der Blutflusses ermöglichen. Die bei der Pulsoximetrie verwendeten Verfahren basieren auf Erkenntnissen aus der Küvettenphotometrie und verwenden nur wenige Einzelwellenlängen, so daß eine Meßvolumenveränderung und die Registrierung von Streu- oder Absorptionsveränderungen nicht berücksichtigt werden können. Dadurch sind diese Meßverfahren mit erheblichen Meßunsicherheiten belastet. Der Vorteil dieser Geräte bisher ist, daß sie sehr günstig sind und leicht zu handhaben sind.

### 2.2 Bestimmung der Sättigung des Hämoglobins $SO_2$ [%] im kapillär-venösen Strombett und der Menge an Hämoglobin im Meßvolumen

Es sind heute einige **spektrometrische und spektroskopische Verfahren** bekannt (EMPHO, NIRO500, HemoSpec und neu AbTisSpec), die die Bestimmung der Sättigung des Hämoglobins mit Sauerstoff  $SO_2$  [%] quantitativ ermöglichen. Im Vergleich hierzu ist die Bestimmung der Blutmenge oder der Hämoglobinkonzentration im kapillär-venösen Gewebbett nur in relativen Maßzahlen möglich. Mit den genannten Verfahren ist eine quantitative Angabe der Hämoglobinkonzentration im Meßvolumen bzw. der Blutmenge im Gewebe nicht möglich, da diesen Verfahren der Bezug auf den Detektionsbereich und damit auf den Lichtweg bzw. der Tiefenselektivität fehlt.

### 2.3 Bestimmung der Größe des Meßvolumens

Einen möglicher Ansatz der Quantifizierung des Lichtweges und damit des effektiven Meßvolumens bieten zwei Verfahren; erstens die sogenannte PMS (Phase-Modulated Spektroskopie) und zweitens die TRS (Time-Resolved Spektroskopie). Diese zeitaufgelösten Verfahren haben jedoch den entscheidenden Nachteil, daß sie aufgrund des notwendigen Einsatzes von Laserquellen nur mit wenigen Wellenlängen arbeiten können. Somit ist die Bestimmung der Sättigung des Hämoglobins mit  $O_2$ , die aus der spektralen Absorptionsveränderung des Lichtes ermittelt wird, nur schwierig zu erreichen und nur mit sehr teuren Laserverfahren.

## 2.4 Bestimmung der Blutflußmenge und der Blutflußgeschwindigkeit

Mit Laser-Doppler Verfahren, wie z. B. dem OptoFlow lassen sich die Blutflußgeschwindigkeiten und die Blutflußmenge als relative Größen gewinnen. Diese Klasse von optischen Verfahren, die auf der Auswertung der Doppler-Signale basieren ermöglichen keine Aussage zur Bestimmung der Sauerstoffbeladung der Erythrozyten (der roten Blutkörperchen) oder dem aktuellen Meßvolumen.

## 3 Neues, optisches Verfahren zur Bestimmung des Sauerstoffgehaltes und des Sauerstoffverbrauchs nach der Erfindung

### 3.1 Die neue Meßvorrichtung zur Bestimmung der Sauerstoffparameter über einen optischen Sensor

Über ein integriertes Sensorsystem werden Photonen einer kohärenten monochromatischen Lichtquelle und zusätzlich Photonen einer/mehrerer breitbandiger Weißlichtquellen in das Gewebe in einem ersten Bereich eingestrahlt. In unterschiedlichen Abständen zu diesem ersten Bereich werden die wieder austretenden Photonen detektiert. Im räumlichen Wechsel wird das Licht detektiert für die Laser-Doppler-Auswertung, die spektroskopische oder spektrometrische Auswertung. Der Aufbau des integrierten Sensors ist in Abbildung 1 beispielhaft dargestellt.

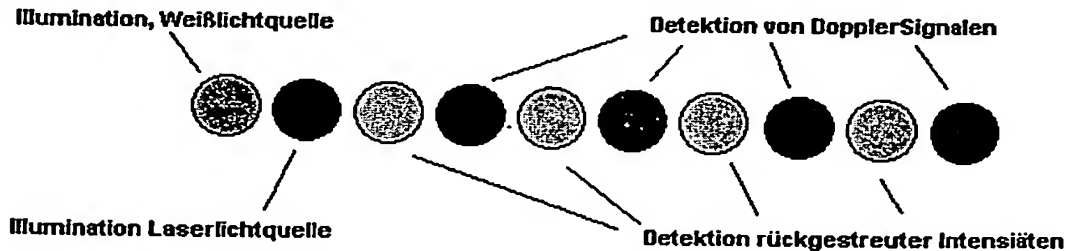


Abbildung 1: Integrierter Meßkopf für die Bestimmung des lokalen Sauerstoffverbrauchs, des Sauerstoffumsatzes und der lokal transportierten Sauerstoffmenge in durchbluteten Geweben (Beispielzeichnung, es sind noch viele Alternativen denkbar!)

Die tiefenselektiven Laser-Doppler-Messungen werden entsprechend der EP 0 771 546 A2 durchgeführt.

Die Abbildung 2 gibt den prinzipiellen Aufbau eines Gewebephotometers wieder. Die Kernkomponenten sind eine breitbandige Lichtquelle, Lichtleitfasern für die Illumination des Gewebes und die Detektion des rückgestreuten Lichtes aus dem Gewebe. Angeschlossen an eine Detektionseinheit, bestehend aus einem Polychromator, der zugleich das Licht spektral zerlegt und wellenlängenabhängig die detektierten Intensitäten quantifiziert. Somit stellt das Gewebephotometer die Ausgangswerte, die Farbspektren zur Verfügung, für die spezifischen spektralen, sich anschließenden Auswertungen der spektralen Information. Im Aufbau nach Abbildung 2 wurde parallel zum Polychromator noch eine spektroskopische Empfangseinheit geschaltet, die es erlaubt in einem eingeschränkten Wellenlängenbereich bzw. bei Einzelwellenlängen die detektierten Rückstreuintensitäten mit größerer Geschwindigkeit und höherer Empfindlichkeit erfassen zu können.

Wichtig wird diese Detektoreinheit für die Auswertung der pulsatilen Blutsignale, so z. B. bei der Bestimmung der arteriellen Sättigung des Hämoglobins.

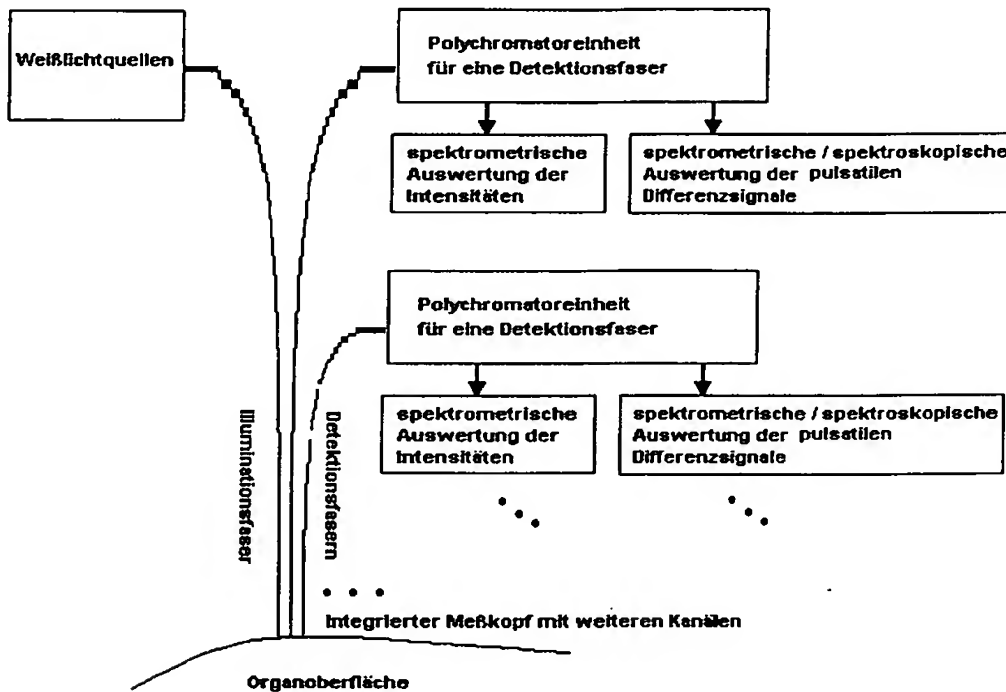


Abbildung 2: Aufbau des Gewebespektrometers für die Bestimmung des Sauerstoffgehalts

Für die Illumination wird eine Weißlichtquelle (oder es werden verschiedene breitbandige LED's) verwendet. Entscheidend ist eine Lichtquelle mit hoher Leuchtdichte und einem möglichst weißem und glatten Spektrum. Das aus dem Gewebe rückgestreute Licht wird spektral zerlegt über einen Polychromator, verstärkt und nachfolgend als wellenlängenabhängiges Licht-Intensitätsmuster zur Auswertung gebracht.

Für die Detektion der oberflächennahen Hämoglobinwerte ist eine Detektoreinheiten notwendig, die besondere Empfindlichkeit im sichtbaren Wellenlängenbereich besitzen. Die Absorptionswerte des Hämoglobins erlauben im Wellenlängenband von 500 bis 650 nm die Bestimmung der Hämoglobinwerte bis in eine Tiefe von maximal 4 Millimetern.

Der Wellenlängenbereich von 500 bis 650 nm (VIS) ist deshalb besonders für oberflächennahe Messungen und der Wellenlängenbereich von 580 nm bis 900 nm (NIR) ist besonders für tiefenselektive Messungen auch in größeren Tiefen und Volumina geeignet, da die effektive Eindringtiefe des Lichtes im NIR Wellenlängenintervall ist größer als im zuerst genannten Wellenlängenintervall. Für die Detektion der Hämoglobinwerte im Makrovolumen ist eine Detektoreinheit notwendig, die besondere Empfindlichkeit im infrarot nahen Wellenlängenbereich besitzt. Die Absorptionswerte des Hämoglobins im Wellenlängenbereich von 600 bis 900 nm sind um den Faktor 10 bis 20 niedriger als im sichtbaren Wellenlängenbereich. Durch die verminderte Lichtabschwächung sind prinzipiell höhere effektive Eindringtiefen in das Gewebe möglich. Durch verschiedene Abstände von Illuminations- und Detektionsbereichen werden zudem unterschiedliche Meßvolumina durch die Sensorgeometrie vorgegeben. Die Kombination der Auswahl von Detektionsabständen und entsprechenden Wellenlängenintervallen können somit klar definiert werden und erlaubt die sich deutliche Abgrenzung einzelner Meßvolumina gegeneinander.

Die Detektoreinheit mit Polychromator ist das Herzstück des Gewebespektrometers. Eine möglichst hohe Quantenausbeute und die daraus resultierende hohe Detektionsfrequenz sind gewünscht. Die höchsten Anforderungen an die Detektionsgeschwindigkeit werden bei der Applikation der Methode in der Kardiologie gestellt, da hier die schnellsten physiologischen Reaktionen zu erwarten sind. Die Sättigung des Hämoglobins  $SO_2$  pulsiert am Myocard mit der Herzfrequenz. Die kritischen Werte  $SO_2$ -Werte sind am Ende der Systole zu erwarten, da während der Kontraktion die Myocarddurchblutung, aufgrund des hohen Druckes im Ventrikel, stark eingeschränkt ist. Die Herzfrequenz beträgt ungefähr 1/sec., mit einer systolischen Kontraktionsdauer im Bereich von 100 ms. Daraus resultiert eine maximal notwendige Abtastfrequenz von 5 msec. um dieses Intervall noch ausreichend auflösen zu können. Alle anderen physiologischen Vorgänge im menschlichen Organismus verlaufen entsprechend langsamer und können mit niedrigeren Abtastfrequenzen detektiert werden. Ein weiterer Vorteil hoher Abtastraten ist die steigende Bediensicherheit, die „verwacklungssichere“ Aufnahmen gewährleisten.

### 3.2 Übersicht über die Sauerstoffparameter, die mit dem integrierten Sensor bestimmt werden können

Die nachfolgende Tabelle stellt eine Übersicht dar, über die Sauerstoffparameter, die mit dem integrierten Sensorkonzept möglich sind. In die Tabelle wurde eine Kreuz an der Stelle gesetzt, an der eine Bestimmungsgröße entweder aus den Gewebespektrometerwerten, den Laser-Doppler-Daten oder den Pulsoximeterwerten nötig ist, um den entsprechenden Sauerstoffparameter bestimmen zu können.

Sauerstoffparameter	Gewebespektrometer				Laser-Doppler		Pulsoximeter
	$SO_2$ kap.-ven.	$Hb_{conc}$	Meßvol.	$Hb_{conc}/Vol$	Blood-Flow	Velocity v	
Sauerstoffgehalt	x		x	x			
Sauerstoffverbrauch	x		x	x			x
Sauerstoffverbrauchsrate	x	x					x
Sauerstoffumsatz	x		x	x		x	x
Sauerstoffumsatzrate	x	x			x		x
$O_2$ -Transportkap.			x	x		x	
		x			x		
Transp. $O_2$ -Menge	x		x	x		x	
	x	x			x		

Tabelle 1: Zusammenstellung der gemeinsamen Meßgrößen des Gewebespektrometers, des Laser-Doppler-Spektroskops, des Pulsoximeters und den sich daraus ergebenden klinisch relevanten Blut- bzw. Sauerstoffversorgungsgrößen bei Integration oder partieller Integration in einen gemeinsamen Meßkopf.

Nachfolgend werden die verschiedenen Sauerstoffparameter hergeleitet und die formalen Zusammenhänge definiert.



## 3.3 Sauerstoffparameter, die mit dem integrierten Sensor ermittelt werden können

### 3.3.1 Die Bestimmung des Sauerstoffgehaltes

Eine Messung des Sauerstoffgehaltes im Blut setzt die Bestimmung der Hämoglobinmenge im untersuchten Gewebavolumen und die Bestimmung der Sättigung des vorhandenen Hämoglobins voraus. Es ist deshalb unerlässlich auch das illuminierte Gewebavolumen quantitativ bestimmen zu können, da die Hämoglobinmenge auf den Volumenwert bezogen werden muß. Die Größe des Illuminations- bzw. Meßvolumens wird maßgeblich bestimmt durch die Sensorgeometrie und die physikalisch-optischen Grundparameter des Gewebes, die in Form von Absorptionskoeffizienten  $\mu_a(\lambda)$  und Streukoeffizienten  $\mu_s(\lambda)$  im verwendeten Spektralbereich der Lichtquellen formuliert werden. Nachfolgend werden die angesprochenen Zusammenhänge in formalen Bezügen in Form von mathematischen Formeln schrittweise abgeleitet:

Der  $O_2$ -Gehalt im Blut läßt sich formal nach folgender Formel bestimmen:

$$O_2 \text{ Gehalt} = Hb_{\text{Menge}} \cdot SO_2 \cdot H$$

Somit gliedert sich das Meßproblem in zwei unterschiedliche Aufgabenstellungen. Einerseits in die Bestimmung der Hämoglobinmenge  $Hb_{\text{menge}}$  und andererseits, in die Bestimmung der Sättigung der Hämoglobins  $SO_2$  mit Sauerstoff. Die Hüfnersche Zahl  $H$  stellt den Zusammenhang her, zwischen Hämoglobingehalt und Sauerstoffgehalt.

Die Berechnung der Hämoglobinmenge wiederum wird in den nachfolgenden Kapiteln beschrieben.

### 3.3.2 Berechnung des Sauerstoffumsatzes bzw. -Verbrauchs

Der Sauerstoffumsatz bzw. der Sauerstoffverbrauch im Gewebe ist formal beschrieben durch:

$$O_2 \text{ Verbrauch} = O_2 \text{ Gehalt arteriell} - O_2 \text{ Gehalt venös}$$

Mit der Annahme, daß die Blutmenge arteriell und venös sei, aufgrund der Kontinuitätsgleichung dieselbe bleibt, läßt sich die Formel vereinfachen zu:

$$O_2 \text{ Verbrauch} = H \cdot (Hb_{\text{Sättigung arteriell}} - Hb_{\text{Sättigung venös}}) \cdot Hb_{\text{Menge(im Meßvolumen)}}$$

Aus der Literatur ist bekannt, daß das arterielle Blutvolumen im Gewebe typischerweise kleiner 5 % ist, womit diese Annahme gerechtfertigt ist, ohne große Verfälschungen zu verursachen.

### 3.3.3 Bestimmung der Sauerstoffverbrauchsrate

Beschränkt man sich anstelle der Bestimmung der Menge an  $O_2$ , die verbraucht wurde auf die Sauerstoffverbrauchsrate, einer Verhältnisangabe von arteriellem zu venösem Verbrauch, so folgt hieraus folgende Bestimmungsgleichung:

$$O_2 \text{ Verbrauchsrate} = (SO_2 \text{ arteriell} - SO_2 \text{ venös}) \cdot Hb_{\text{conc.}}$$

Die  $Hb_{\text{conc.}}$  ist in gleicher Weise in oben beschrieben zu bestimmen. Die  $Hb_{\text{conc.}}$  ist proportional zum Extinktionswert (oder auch der Optical-Density) bezogen auf das jeweilige Meßvolumen.

### 3.3.4 Bestimmung der lokalen Sauerstofftransportkapazität und transportierten Sauerstoffmenge

Im Gewebe ist es nicht immer möglich die gemessene arterielle Sättigung mit der zugehörigen kapillar-venösen Hämoglobinsättigung zu verrechnen. Das ist streng genommen nur dann der Fall, wenn die Kontinuitätsgleichung im entsprechenden Gewebevolumen erfüllt ist. Es kann jedoch lokal für jedes Gewebevolumen ein Größe bestimmt werden, die als transportierte Sauerstoffmenge, oder lokale Sauerstofftransportkapazität bezeichnet werden soll. Diese Größen können mit dem neuen, integrierten Sensorkonzept erfaßt werden.

#### 3.3.4.1 Die lokale Sauerstofftransportkapazität

Die lokale Sauerstofftransportkapazität bestimmt sich aus der lokal vorhanden Zahl von Erythrozyten, die ausgedrückt wird in der lokalen Hämoglobinkonzentration  $Hb_{conc}$ , multipliziert mit der Hüfnerschen Zahl  $H$  und multipliziert mit der Fließgeschwindigkeit  $v_{Blut}$  der Erythrozyten im untersuchten Areal.

$$O_2 \text{ Transportkap.} = H \cdot Hb_{conc} \cdot v_{Blut}$$

Da die Laser-Doppler Geräte einen Wert berechnen, der einer relativen Durchblutung *Blood-Flow* entspricht kann in einer Näherungslösung für relative Werte auch folgende Gleichung herangezogen werden.

$$O_2 \text{ Transportkap.} = H \cdot SO_2 \cdot BloodFlow$$

#### 3.3.4.2 Die lokal transportierte Sauerstoffmenge

Die transportierte Sauerstoffmenge bestimmt sich aus der lokal vorhanden Zahl von Erythrozyten, die ausgedrückt wird in der lokalen Hämoglobinkonzentration  $Hb_{conc}$ , multipliziert mit der Hüfnerschen Zahl, der lokalen Sauerstoffsättigung des Hämoglobins und multipliziert mit der Fließgeschwindigkeit  $v_{Blut}$  der Erythrozyten im untersuchten Areal.

$$\text{Transportierte } O_2 \text{ Menge} = H \cdot Hb_{conc} \cdot SO_2 \cdot v_{Blut}$$

Da die Laser-Doppler Geräte einen Wert berechnen, der einer relativen Durchblutung *Blood-Flow* entspricht kann in einer Näherungslösung für relative Werte auch folgende Gleichung herangezogen werden.

$$\text{Transportierte } O_2 \text{ Menge rel.} = H \cdot SO_2 \cdot BloodFlow$$

### 3.4 Bestimmungsgrößen, die mit dem Gewebespektrometer zu ermitteln sind

#### 3.4.1 Berechnung der Sättigung des Hämoglobins $SO_2$

Für die Berechnung der Sättigungswerte wird die spektrale Form der Spektren über ein Formerkennungs- und Mischverfahren ausgewertet. Als Meßwerte erhält man die Sättigung des Hämoglobins mit  $O_2$  im kapillär-venösen Gewebebett. (Vergleiche Diss. Dümmler, und Diss. Krug) In der vorliegenden speziellen Fragestellung, der Bestimmung von Hb-Spektren in Gewebemessungen, wird die Absorption  $A$  dargestellt als Summe, gebildet aus Grundabsorption  $A_0$  und den Mischabsorptionsanteilen von 0 % und 100 % oxygeniertem Hämoglobin. Die spektralen Absorptionskoeffizienten werden durch die spezifischen Extinktionswerte von oxygeniertem Hb,  $\epsilon_{ox}^{Hb}$  und deoxygenierten Extinktionskoeffizienten von deoxygeniertem Hb,  $\epsilon_{deox}^{Hb}$  in Gleichung (G 3.4-1) ausgedrückt.

$$(G\ 3.4-1) \quad A(\lambda) = A_o + C_{ox} \cdot \epsilon_{ox}^{Hb}(\lambda) + C_{deox} \cdot \epsilon_{deox}^{Hb}(\lambda)$$

Die Koeffizienten  $C_{ox}$  und  $C_{deox}$  geben den Mischungsanteil an, aus dem sich jedes gemessene Spektrum entsprechend seinem Oxygenierungsgrad zusammensetzen läßt.

Die Streuung  $S$  wird in einem ersten Ansatz als wellenlängenabhängige Funktion erster Ordnung angenähert (G 3.4-2), bestehend aus der Linearkombination von Grundstreuung  $S_o$  und wellenlängenabhängigem Streuanteil  $S_1$ .

$$(G\ 3.4-2) \quad S(\lambda) = S_o + \lambda \cdot S_1$$

Nach dem oben beschriebenen Verfahren, werden die gemessenen Spektren auf die Form  $A/S$  gebracht und mit dem Modellansatz, siehe rechte Seite von Gleichung (G 3.4-3), gleichgesetzt.

$$(G\ 3.4-3) \quad \frac{A}{S}(\lambda) = \frac{A_o + C_{ox} \cdot \epsilon_{ox}^{Hb}(\lambda) + C_{deox} \cdot \epsilon_{deox}^{Hb}(\lambda)}{S_o + \lambda \cdot S_1}$$

Durch iterative Bestimmung der Koeffizienten  $\frac{A_o}{S_o}, \frac{C_{ox}}{S_o}, \frac{C_{deox}}{S_o}, \frac{S_1}{S_o}$  mittels Newton und Least Square

Verfahren und anschließender Quotientenbildung (G 3.4-4) sind die Sättigung des Hämoglobins bestimmt:

$$(G\ 3.4-4) \quad HbO_2 = \frac{C_{ox}}{C_{ox} + C_{deox}}$$

Die Sättigung des Hämoglobins kann somit nur im Wertebereich von 0 % bis 100 % liegen. Die Berechnungsgenauigkeit hängt von der Güte des Gewebemodells ab. Das oben präsentierte Gewebemodell ist jederzeit erweiterbar, so kann die Grundabsorption  $A_o$  ersetzt werden durch gewebespezifische Grundspektren  $A_{\text{Gewebe}}(\lambda)$ , die aus einer Organtabelle zu entnehmen sind.

### 3.4.1.1 Startroutine zur Calibrierung des Gerätes

Zu Beginn jeder Messung sollte Dunkelspektrum aufgenommen werden um die elektronische Null der Verstärker und den Wert des Störlichtes, das in die Detektoreinheit einfällt, zu erfassen. Zweitens ist es notwendig ein Spektrum über einen Weißstandard aufzunehmen, um die Gerätefunktion der Lampe, des Sensors und der gesamten Detektoreinheit erfassen zu können. Je nach Güte des Spektrometers sollte in bestimmten Zeitintervallen die spektrale Genauigkeit durch eine spektrale Kontrollmessung z. B mittels einer Quecksilber-Argon Kalibrierquelle durchgeführt werden. Die beschriebenen Abgleichspektren sollten mit mindestens 10 mal höherer Mittelrate aufgenommen werden als die nachfolgenden Gewebespektren, da die Fehler im Dunkel- und im Weißstandardspektrum durch die spektrale Vorverarbeitung auf alle Meßdaten weitergereicht werden.

### 3.4.1.2 Spektrale Vorverarbeitung

Die aufgenommen Rohspektren müssen vorverarbeitet werden, bevor sie zur Auswertung herangezogen werden können. Er wird das Rückstreuungsspektrum  $R(\lambda)$  berechnet:

$$R(\lambda) = \frac{\text{Spektrum}_{\text{Roh}}(\lambda) - \text{Spektrum}_{\text{Dunkel}}(\lambda)}{\text{Spektrum}_{\text{Weißstandard}}(\lambda) - \text{Spektrum}_{\text{Dunkel}}(\lambda)}$$

Hierzu muß in der Startroutine des Programms zuvor eine Calibrierroutine durchlaufen werden, während der das Dunkelspektrum und das Weißstandardspektrum aufgenommen werden müssen. Durch die Vorverarbeitung der Spektren werden die Farbfehler des optischen Systems des Gerätes eliminiert.

### 3.4.1.3 Berechnung der Hämoglobinoxygenierung im VIS und NIR Bereich

#### 3.4.1.3.1 Referenzspektren für vollständig oxygeniertes und deoxygeniertes Hämoglobin

Für die Berechnung der Hämoglobinoxygenierung werden vollständig oxygenierte Hämoglobinspektren  $\epsilon_{ox}^{Hb}(\lambda)$  und vollständig deoxygenierte Hämoglobinspektren  $\epsilon_{deox}^{Hb}(\lambda)$  benötigt. Diese Spektren sollten mit derselben Wellenlängenauflösung aufgenommen werden, in der auch die Meßspektren digitalisiert werden.

## 3.4.1.3.2 Gewebereferenzspektren

Das oben dargestellte Gewebemodell kann erweitert werden, so daß die spezifischen Organspektren  $A_{\text{Gewebe}}(\lambda)$  direkt in das Modell mit einfließen können.

$$\frac{A}{S}(\lambda) = \frac{A_{\text{Gewebe}}(\lambda) + C_{\text{ox}} \cdot \epsilon_{\text{ox}}^{\text{Hb}}(\lambda) + C_{\text{deox}} \cdot \epsilon_{\text{deox}}^{\text{Hb}}(\lambda)}{S_0 + \lambda \cdot S_1}$$

Die spezifischen Gewebespektren sind für jedes Organ als ein typisches Mittelwertsspektrum unter hämoglobinfreier Perfusion zu gewinnen.

## 3.4.1.3.3 Hämoglobinkonzentrationsabhängige Referenzspektren

Aus vielen Messungen stammt die Erkenntnis, daß rückgestreute Hämoglobinspektren von Erythrozyten verzerrt und insbesondere gestaucht sind, gegenüber Spektren, die in Transmissionsanordnung von Lichtquelle und Detektor aufgenommen wurden. Die Eigenschaften der einzelnen Spektrometerbausteine spielen dabei keine Rolle. Die Amplituden der Hämoglobinspektren, die in Remissionsanordnung gemessen werden, sollten den Amplituden der  $\text{HbO}_2$ -Referenzfiles ähnlich sein. Hieraus ergibt sich erneut die Forderung nach jeweils geeigneten, vergleichbaren  $\text{HbO}_2$ -Referenzfiles. Der Hauptgrund für die Stauchung der Spektren liegt, nach heutigem Erkenntnisstand, in den unterschiedlichen Meßvolumina der verschiedenen Absorptionswerte des Hämoglobins. Das Licht der Wellenlängen zwischen 540 nm und 580 nm erfährt eine stärkere Abschwächung als in den angrenzenden Wellenlängenbereichen und dringt deshalb weniger tief in das Gewebe ein. Licht der schwächer absorbierenden Wellenlängen des Hämoglobin-Spektrums hingegen dringt tiefer in das Gewebe ein und erfährt deshalb, absolut gesehen, einen höheren Abschwächungsgrad, als unmittelbar vom Extinktionswert zu schließen wäre. Dieser Zusammenhang konnte direkt aus den Messungen der Eindringtiefen in den Zweischichtmodellen gefolgert werden.

In Abbildung 3 wird ein Zweischichtmodell beschrieben, das aufgebaut ist aus einer streuenden Suspension (z. B. Intralipid®, Zellen oder Gewebeschichtungen) angeordnet über einen totalen Absorber, wie z. B. Tinte, getrennt durch eine nur wenige  $\mu\text{m}$  dicke PVC-Folie.

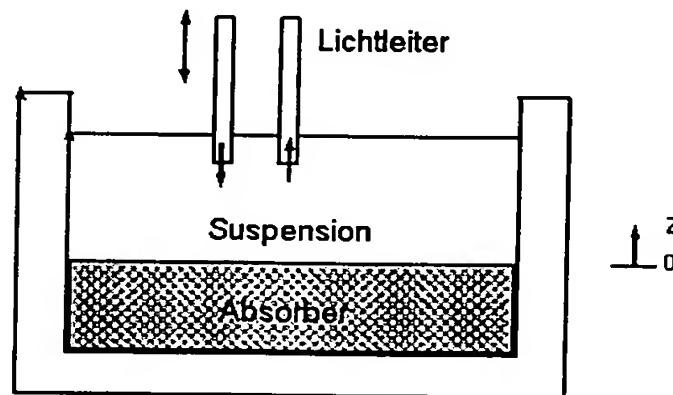


Abbildung 3: Zweischichtmodell, Einrichtung zur Bestimmung der 90% Eindringtiefe, die auch als Detektionstiefe bezeichnet wird.

Beispielhafte Ergebnisse aus Messungen der Detektionstiefen in Intralipid-Suspension sind in der Tabelle 2 zusammengestellt. Die Gegenüberstellung zeigt, daß bei 542 nm weit aus größere Detektionstiefen bestimmt werden als bei 628 und 760 nm, dann wenn Hämoglobin das Meßvolumen

aufgrund seiner unterschiedlichen Absorptionskoeffizienten für die verschiedenen Wellenlängen moduliert.

Detektionstiefen in $\mu\text{m}$ für Tinte als Hintergrundabsorber			
Wellenlänge	542nm	628nm	760nm
IL 2%	920	1000	1120
IL2%+0,25 g Hb/dl	320	580	880
Detektionstiefen in $\mu\text{m}$ für schwarzes PVC als Hintergrundabsorber			
Wellenlänge	542nm	628nm	760nm
IL 2%	1000	1040	1060
IL2%+0,25 g Hb/dl	380	660	920

Tabelle 2: Berechnung der Detektionstiefen, aufgenommen mit 200  $\mu\text{m}$  Quarzfaser in Intralipid-Suspension.

Prinzipiell sind zwei Wege beschreibbar, um das Problem der Verzerrung der rückgestreuten Hb-Spektren zu lösen. Entweder die Meßspektren werden entsprechend ihrer Hämoglobinkonzentration entzerrt indem die Extinktionswerte auf das jeweilige effektive Meßvolumen bezogen werden, oder es wird eine ganze Schar von  $\text{HbO}_2$ -Referenzfiles mit unterschiedlichen Hämoglobinkonzentrationen und unterschiedlichen Verzerrungsgraden generiert und dem Auswertalgorithmus zur Verfügung gestellt. Der erst genannten Lösung ist der Vorzug zu geben, da hierbei Standard-Hämoglobinspektren aus Küvettenmessungen verwendet werden können und die Bestimmung des Meßvolumens zudem für die quantitative Berechnung der Hämoglobinkonzentration benötigt wird.

### 3.4.2 Berechnung des Wertes der relativen Hämoglobinkonzentration $\text{Hb}_{\text{conc}}$ im VIS

Die Bestimmung der Hämoglobinmenge wird formal beschrieben durch nachfolgende Gleichung:

$$\text{Hb}_{\text{Menge}} = C_{\text{Hb}} \cdot V_{\text{Meß}}$$

Aus obiger Formel wird deutlich, daß zur Bestimmung der Hämoglobinmenge die beiden Größen, Hämoglobinkonzentration  $C_{\text{Hb}}$  und Meßvolumen  $V_{\text{Meß}}$  meßtechnisch erfaßt und berechnet werden müssen.

Für die Bestimmung der Hämoglobinmenge im jeweiligen Meßvolumen können verschiedene theoretische Ansätze zur Anwendung kommen. Im einfachsten Fall wird die Hämoglobinkonzentration mit Hilfe des Gesetzes von Lambert-Beer (siehe nächste Formel) bestimmt:

$$\text{Ext.} = \log \frac{I_0}{I} = C_{\text{Hb}} \cdot \epsilon_{\text{Hb}}(\lambda) \cdot d$$

Die Extinktion  $\text{Ext.}$  wird berechnet aus dem Logarithmus der ins Objekt eingestrahlten Lichtintensität  $I_0$  im Verhältnis zu der aus dem Objekt austretenden Lichtintensität  $I$ . Entsprechend Lambert-Beer ist die Extinktion abhängig von der Hämoglobinkonzentration  $C_{\text{Hb}}$ , dem wellenlängen-abhängigen Absorptionskoeffizienten  $\epsilon_{\text{Hb}}$  und der Küvettendicke  $d$ .

Die  $\text{Hb}_{\text{conc.}}$  ist in gleicher Weise in oben beschrieben zu bestimmen. Die  $\text{Hb}_{\text{conc.}}$  ist proportional zum Extinktionswert (oder auch der Optical-Density) bezogen auf das jeweilige Meßvolumen.



$$Hb_{conc.} = K_i \cdot \frac{OD.}{V_{Me\beta}} = K_i \cdot \frac{\log \frac{I_o}{I}}{\epsilon_{Hb} \cdot V_{Me\beta}}$$

Die Bestimmung des Meßvolumens wird nachfolgen, in einem gesonderten Kapitel beschreiben.

### 3.4.2.1 Bestimmung der Hämoglobinkonzentration durch Auswertung der Diffusionsnäherung der Strahlungstransportgleichung

Eine andere Möglichkeit zur Bestimmung der Hämoglobinkonzentration ist gegeben durch die Strahlungstransportgleichung. In ihrer allgemeinen Form ist sie jedoch nicht geschlossen lösbar und ist aus diesem Grund nicht besonders gut zu handhaben. Deshalb wird in der Gewebespektrometrie häufig mit der Diffusionsnäherung der Strahlungstransportgleichung gearbeitet.

Die Gleichungen, abgeleitet auf der Basis der Diffusionsnäherung, werden nachfolgend eingeführt. Mit Hilfe der Diffusionsapproximation<sup>79</sup> wird ein x-Gradient in Remissionsanordnung der Lichtleiter formal beschrieben als:

$$(G\ 3.4-1) \quad I(x) = \frac{3P_o}{16\pi^2} \frac{\exp\left(-x\sqrt{3\mu_a(\mu_a + \mu_s')}\right)}{x} (\mu_a + \mu_s')$$

Hieraus läßt sich mit einer Zusammenfassung zu zwei Koeffizienten  $C_1$  und  $C_2$

$$(G\ 3.4-2) \quad \begin{aligned} C_1 &= \frac{3P_o}{16\pi^2} (\mu_a + \mu_s') \\ &= \frac{3P_o}{16\pi^2} (\rho\sigma_a + \rho\sigma_s(1-g)) \end{aligned}$$

und

$$(G\ 3.4-3) \quad \begin{aligned} C_2 &= \sqrt{3\mu_a(\mu_a + \mu_s')} \\ &= \sqrt{3\rho\sigma_a(\rho\sigma_a + \rho\sigma_s(1-g))} \\ &= \rho \cdot \sqrt{3\sigma_a(\sigma_a + \sigma_s(1-g))} \end{aligned}$$

die Beschreibung der Gradienten (G 3.4-31) zusammenfassen zu:

$$(G\ 3.4-4) \quad I(x) = C_1 \frac{\exp(-C_2 x)}{x}$$

Um aus gemessenen x-Gradienten die Größen  $C_1$  und  $C_2$  bestimmen zu können, werden die aufgenommenen Intensitätsgradienten über ein Programm gefittet und auf die Form von Gleichung (G 3.4-4) gebracht. Festzuhalten gilt, daß sowohl bei Steigerung der Zahl der Mitochondrien in Suspension ( $\rho = \rho_{Mito}$ ) als auch bei Steigerung Erythrozytenanzahl im Volumen ( $\rho = \rho_{Erys}$ ) ein linearer Zuwachs der Koeffizienten  $C_1$  und  $C_2$  nach den Gleichungen (G 3.4-2) und (G 3.4-3) zu erwarten ist. Aus den ermittelten Koeffizienten  $C_1$  und  $C_2$  kann nachfolgend  $\mu_a$  und  $\mu_s$  bestimmt werden. Der Koeffizient  $\mu_a(\lambda)$  gibt den Absorptionskoeffizienten des Gewebes wieder, aus dem mit entsprechenden Näherungen oder nach Vernachlässigung weiterer Absorber im Gewebe die Hämoglobinkonzentration im Gewebe bestimmt werden kann.

## 3.4.2.2 Bestimmung der Hämoglobinkonzentration durch Auswertung der Rückstreuenspektren

Die quantitative Bestimmung der lokalen Hämoglobinkonzentration im Mikrovolumen ist eine komplexe Aufgabe. Von den verschiedenen Arbeitsgruppen wurden die optischen Eigenschaften unterschiedlicher Gewebe untersucht. Es zeigte sich, daß der Streukoeffizient  $\mu_s$  mindestens 10 mal größer ist, als der Absorptionskoeffizient  $\mu_a$ . Demzufolge wird die rückgestreute Lichtmenge primär bestimmt durch die Streueigenschaften des untersuchten Gewebes.

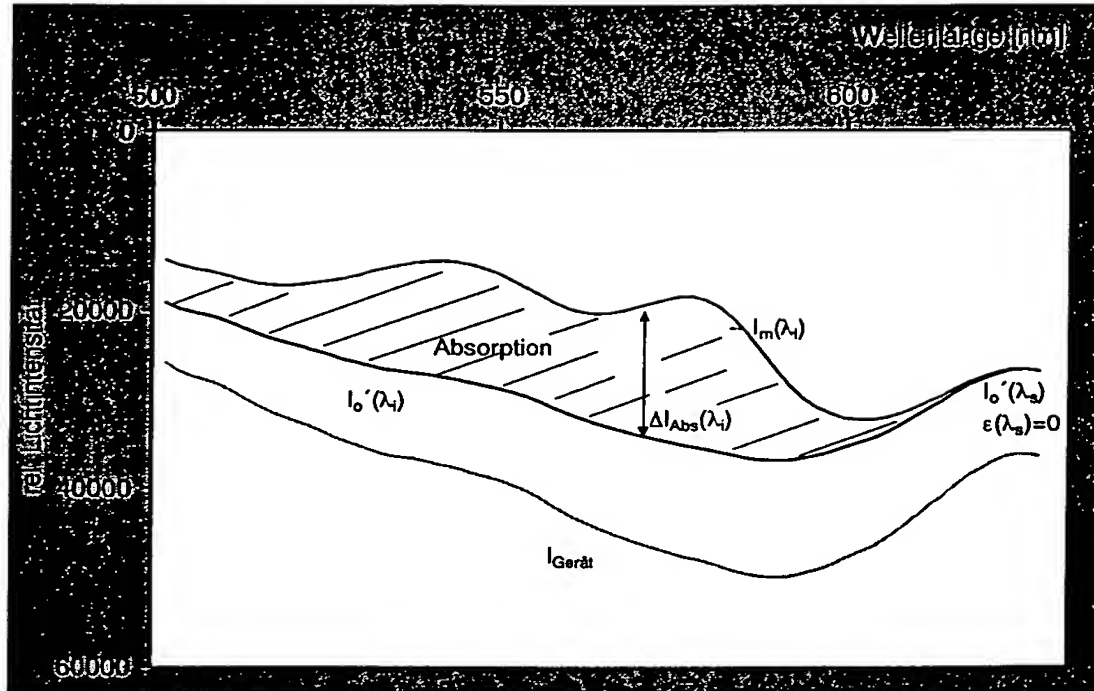


Abbildung 4: Spektrum der Gerätefunktion  $I_{\text{Gerät}}$ , Spektrum eines idealen Streuers  $I'_0$  und gemessenes Hämoglobinspektrum  $I_m$

Für die Entwicklung des nachfolgenden Bestimmungsverfahrens sind die beiden Aussagen wichtig:

1. An der Gewebeoberfläche können nur Lichtintensitäten gemessen werden, die durch Streuung im Gewebe zurückgeworfen wurden.
2. Befindet sich ein Absorber, wie das Hämoglobin, im Gewebe so schwächt dieser das Licht auf dem Weg ins Gewebe, zwischen den Streueignissen und auf dem Weg zurück zum Detektorlichtleiter.

Aus beiden Aussagen läßt sich folgern, daß bei einer Wellenlänge, bei der die Absorption vernachlässigbar klein ist, die gemessene Lichtintensität nur von der Rückstreuung bestimmt ist. Bei allen anderen Wellenlängen, bei denen die Absorption nicht vernachlässigbar ist, wird das Licht durch den Absorber geschwächt und die Intensität ist deshalb kleiner als die ungestörte Rückstreuintensität. Anhand der Abbildung wird das neue Auswerteverfahren zur Bestimmung der Hb-Amplituden von Gewebespektren entwickelt. In dieser Abbildung sind unkorrigierte Spektren dargestellt. Die Kurve  $I_{\text{Gerät}}(\lambda_i)$  zeigt die Gerätefunktion, bzw. die optische Fehlerfunktion des Gewebespektrometers. Gegen dieses Spektrum müssen alle gemessenen Spektren korrigiert werden, um die gerätespezifischen Verfälschungen der Meßspektren zu eliminieren. Die Kurve  $I'_0(\lambda_i)$  entspricht dem Spektrum, das man erhält, wenn ein weißer Streuer vorliegt. Die Kurve  $I_m(\lambda_i)$  entspricht einem tatsächlich gemessenen Spektrum, das man erhält bei einer physiologischen Hämoglobinkonzentration im Streumedium. Kennt man die reine Rückstreuintensität  $I'_0(\lambda_i)$ , so kann man den Anteil der Lichtschwächung durch den Absorber aus der Differenz zwischen der reinen Rückstreuintensität und der gemessenen Intensität  $I_m(\lambda_i)$  ermitteln. Der formale Zusammenhang läßt sich ausdrücken durch

$$(G\ 3.4-5) \quad I'_0(\lambda_i) = I_m(\lambda_i) + \Delta I_{\text{Abs}}(\lambda_i)$$

In der Rückstreuphotometrie erhalten wir die ungeschwächte Rückstreuintensität  $I'_0$ , dann, wenn die Absorberkonzentration im Gewebe gleich Null ist. Wenn sich im Gewebe also ausschließlich Streuer befinden.

Die Abbildung zeigt ein gemessenes Hämoglobinspektrum  $I_m(\lambda_i)$ . Die Annahme, daß eine Wellenlänge existiert, bei der die Absorption durch das Hämoglobin vernachlässigbar klein ist, existiert bei der Wellenlänge von 628 nm. Besser geeignet wären noch die Wellenlängen der absoluten Minima der Extinktionswerte des Hämoglobins, die bei 690 nm für das oxygenierte und bei 850 nm für das deoxygenierte Hämoglobin liegen. Da jedoch der sichtbare Meßbereich des hier benutzten Spektrometers bei 628 nm endete, konnten die absoluten Minima nicht benutzt werden. Die Wellenlänge von 628 nm wurde deshalb als Bezugspunkt gewählt, auf den in diesem Verfahren die Meßspektren normiert werden.

Die Abbildung veranschaulicht, daß die Differenz zwischen  $I'_0(\lambda_i)$  und  $I_m(\lambda_i)$  der Absorption des Lichtes bei dieser Wellenlänge entspricht. Somit entspricht auch der Quotient

$$\log[I'_0(\lambda_i) / I_m(\lambda_i)]$$

der Absorption. Wird dieser Quotient ermittelt, so stellt er ein quantitatives Maß für die Extinktion, bzw. für die Absorption des Lichtes in diesem ideal streuenden Medium dar.

### 3.4.2.2.1 Oxygenierungsabhängige Korrektur der Flächen-Absorptionswerte

Für die Berechnung der Hämoglobinkonzentration wird die Fläche der extrahierten Hämoglobinamplituden integriert und daraus ein Absorptionswert pro Spektrum berechnet. Die Integralwerte für oxygenierte und deoxygenierte Spektren unterscheiden sich jedoch. Deshalb wurde in der zweiten Entwicklungsstufe eine oxygenierungsabhängige Korrektur der extrahierten Hämoglobinamplituden eingeführt. Die Grundidee dieser Korrektur besteht darin, die Flächeninhalte der unterschiedlich oxygenierten Spektren zu erfassen und eine Korrektur für die unterschiedlichen Oxygenierungswerte durchzuführen. Es wurde ermittelt, daß der Flächeninhalt eines voll oxygenierten Hb-Spektrums (500 - 630 nm) um 16 % größer ist, als der Flächeninhalt eines voll deoxygenierten Spektrums (Siehe Abbildung 5). Für die Ermittlung dieser Korrekturwerte wurde auf die Literaturspektren nach Assendelft (1970)<sup>3</sup> zurückgegriffen.

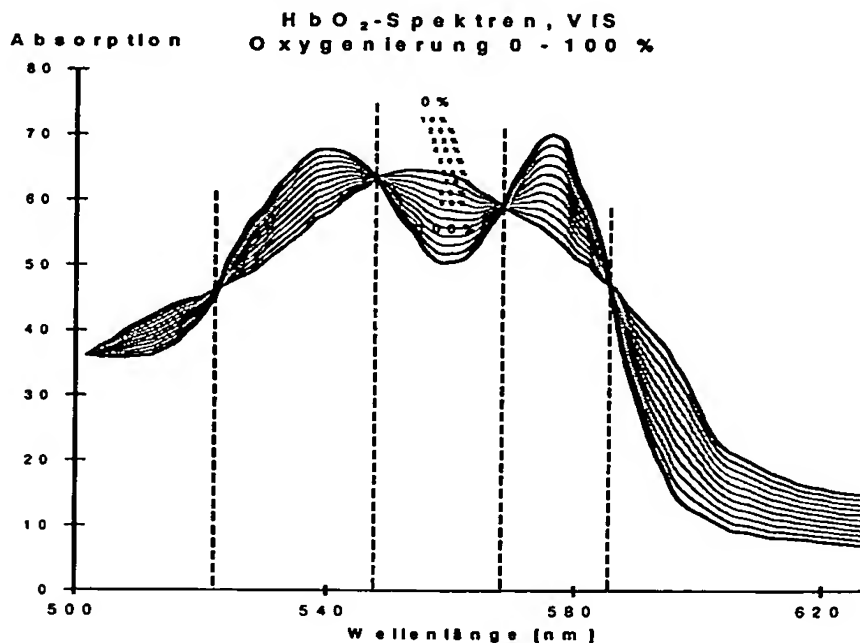


Abbildung 5: Hämoglobinspektren mit 0 % bis 100 % Oxygenierungswerten, errechnet über das Farbmischverfahren, zur Bestimmung der Flächenwerte der Hämoglobinamplituden, nach Assendelft [Assendelft, 1970]<sup>3</sup>



Durch Berechnungen mit dem Farbmischverfahren konnten auch die Flächeninhalte aller Zwischenwerte der Hb-Oxygenierung zwischen den Werten 0 % und 100 % HbO<sub>2</sub> ermittelt werden. Die Abbildung 6 stellt den Zusammenhang, zwischen den errechneten Flächeninhalten F und den Oxygenierungswerten des Hämoglobins dar. Der nahezu lineare Verlauf dieser Kurve wurde durch die Geradenfunktion von Formel (G 3.4-6) angenähert.

$$(G\ 3.4-6) \quad F = \frac{HbO_2 [\%]}{100} \left( 1 + (100 - HbO_2 [\%]) \cdot 0,16 \right)$$

In Abhängigkeit vom Oxygenierungswert des Spektrums wird über den normierten Flächenfaktor F eine Korrektur des integralen Anteils der Absorptionsamplituden eingeführt.

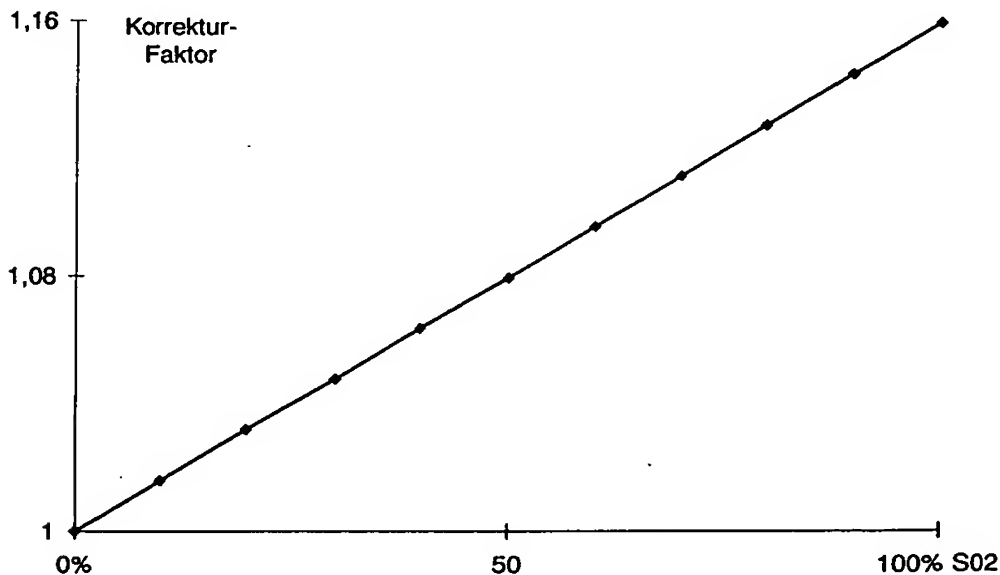


Abbildung 6: Flächenwerte der Hämoglobinamplituden für alle Hb-Oxygenierungen, normiert auf das deoxygenierte Spektrum

Für die Ergebnisse der Abbildung 7 ist das oxygenierungsabhängige Korrekturverfahren der Extinktionswerte angewandt worden. In dem abgebildeten Versuch wurde die Hämoglobinkonzentration konstant gehalten und nur die Hb-Oxygenierung mit Hilfe eines Oxygenators rasch geändert. Die Abbildung des verwendeten Versuchsaufbaus ist in Abb. 2.2.1 nachzuschlagen. Der unkorrigierte Extinktionswert zeigte starke Extinktionserhöhungen (um 17 %) bei einer Oxygenierungsänderung von 0 % auf 100 % SO<sub>2</sub>. Die korrigierte Hämoglobin-Konzentrationskurve, die bei idealer Korrektur absolut konstant bleiben sollte, zeigt nach angewandter Korrektur noch eine leichte oxygenierungsabhängige Änderung des Hb-Extinktionswertes an. Somit bleibt eine maximale oxygenierungsabhängige Fehlberechnung von ca. 1 % bestehen.

14.3.12.99

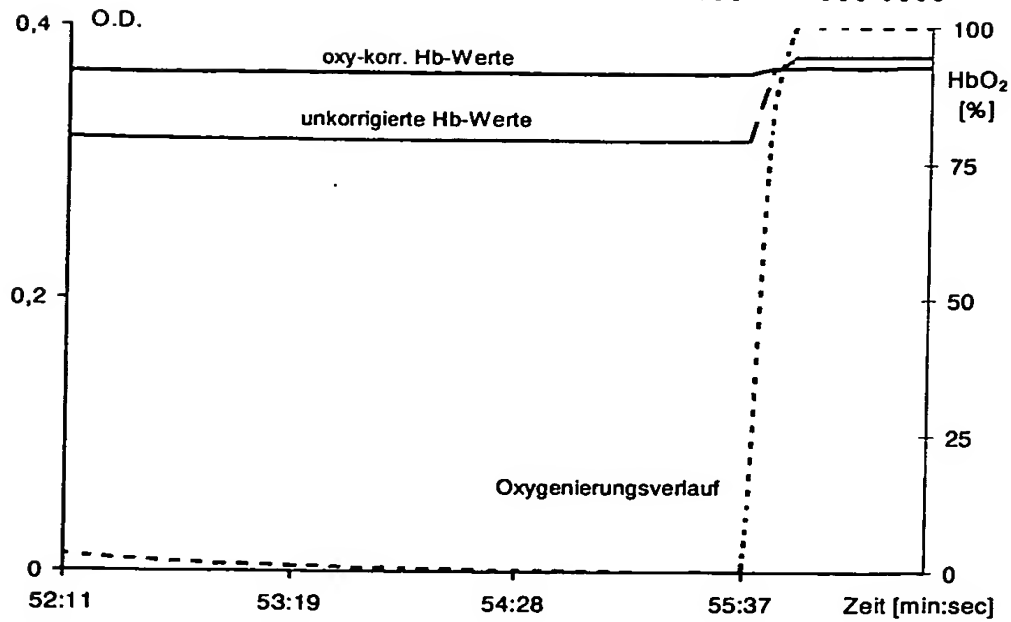


Abbildung 7: Gegenüberstellung von oxygenierungs-korrigierten und unkorrigierten Hb-Flächenwerten

Die beiden Abbildungen 8 und 9 fassen die Resultate des Versuchs zusammen und dokumentieren die Gültigkeit des vorgestellten Verfahrens. Die Ergebnisse zeigen den Zusammenhang auf zwischen zupipetierten Hb-Konzentrationen in Suspension und den oxygenierungsabhängigen korrigierten Hb-Extinktionswerten. In Abbildung 8: kann die Genauigkeit der oxygenierungsabhängigen Korrektur für alle Hämoglobinkonzentrationsstufen abgelesen werden, bei Oxygenierungsänderungen von 0 % auf 100 % HbO<sub>2</sub>. Die größte Abweichung kann bei 1,0 g/dl abgelesen werden.

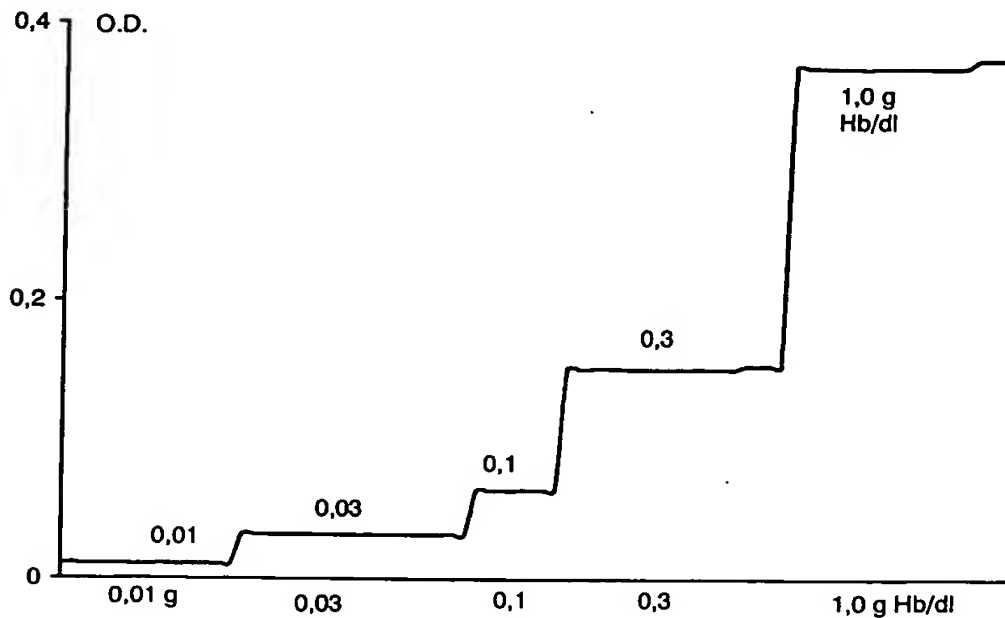


Abbildung 8: Berechnete Hämoglobinkonzentration (rel. Extinktion) bei den fünf eingestellten Hb-Konzentrationen in der Suspension

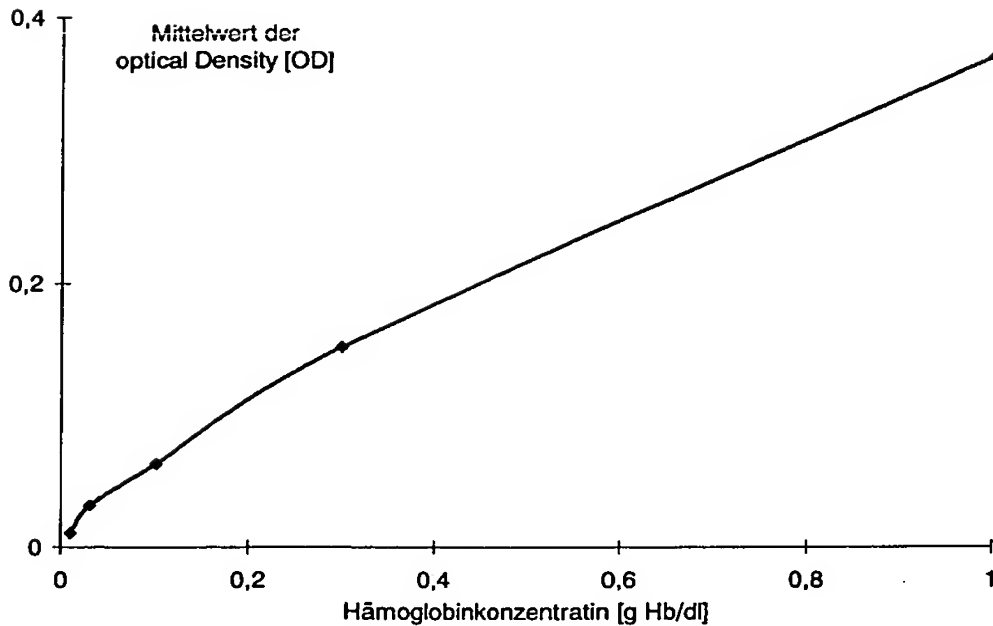


Abbildung 9: Funktioneller Zusammenhang zwischen der Hämoglobinkonzentration in der Suspension und dem errechneten Mittelwert der relativen Extinktionswerte

### 3.4.3 Berechnung des Wertes der relativen Hämoglobinkonzentration $Hb_{conc}$ im NIR

Das Verfahren für die Berechnung der rel. Hämoglobinkonzentration im NIR ist in ähnlicher Weise aufzubauen, wie dies für den sichtbaren Wellenlängenbereich entwickelt wurde. Es müssen jedoch die spektralen Besonderheiten im NIR berücksichtigt werden.

### 3.4.4 Berechnung des aktuellen Meßvolumens $V_{mess}$ im VIS und im NIR

Nun zur Berechnung des Meßvolumens: Das Meßvolumen  $V_{meß}$  kann bestimmt werden aus der Messung eines oberflächlichen Intensitätsgradienten. Zusätzlich wird eine experimentell für das jeweilige Gewebe zu bestimmende Übertragungsfunktion benötigt. Diese Übertragungsfunktion stellt den Zusammenhang her zwischen dem meßtechnisch erfaßbaren Intensitätsgradienten an der Oberfläche, und dem nicht meßbaren Intensitätsgradienten in die Tiefe des Gewebes. Als effektives Meßvolumen wird das Volumen erachtet, in dem die Rückstreuintensitätsgradienten auf 90 % abgeschwächt wurden. (siehe Abbildung 10)

M 31.12.99

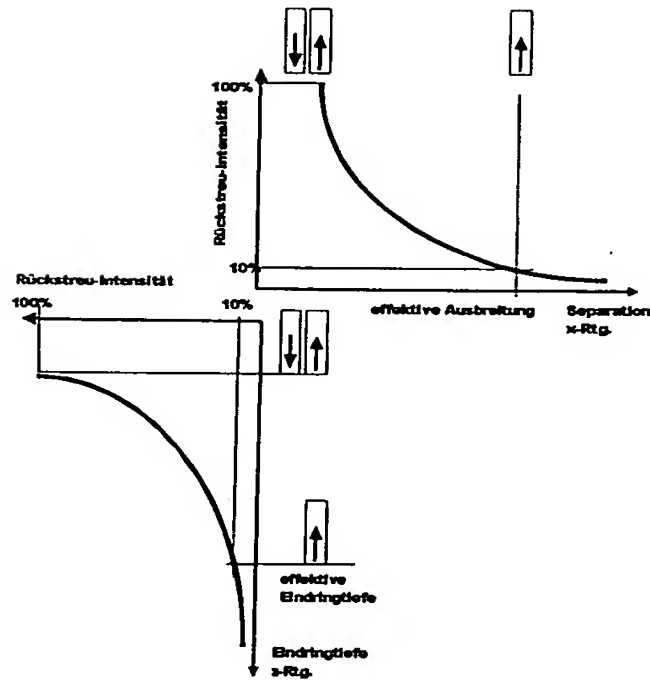


Abbildung 10: Definition der effektiven Eindringtiefe als Tiefe oder Entfernung, aus der 90 % des rückgestreuten Lichtes stammen.

Die effektive Eindringtiefe hier auch als Detektionstiefe bezeichnet, kann durch nachfolgende Einrichtung, Abbildung 11, bestimmt werden.

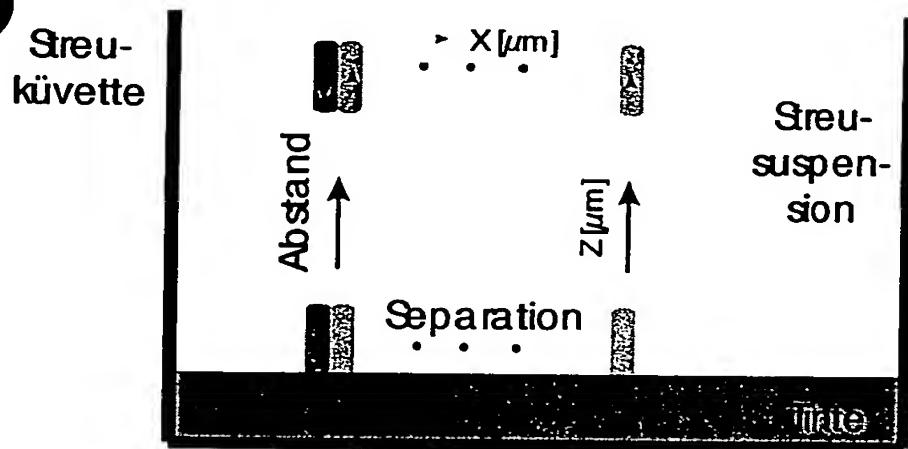


Abbildung 11: Zeichnung der Streuküvette und Darstellung der Scan-Richtungen. Mit einer Mikrometerschraube wurde jeweils eine neue Lichtleiterseparation eingestellt, die

gescannt wurde. Der Scan gibt die Lichtintensitäten der verschiedenen Abstände von den Lichtleitern zur Tinte - dem 'schwarzen Loch' - wieder.

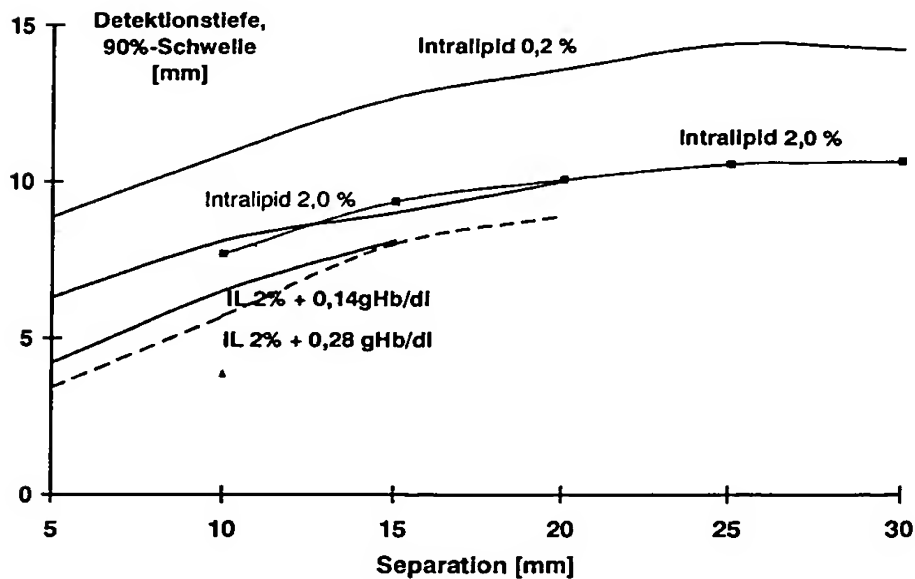


Abbildung 12: Übersichtsbild aller Berechnungen der Detektionstiefen mittels 90 % Schwelle, in verschiedenen Intralipid-Suspensionen, bei verschiedenen Separationen, ausgewertet bei 760 nm

Aus der Bestimmung der Detektionstiefen in x und in z-Richtung (siehe Abbildung 10) läßt sich das Meßvolumen näherungsweise bestimmen.

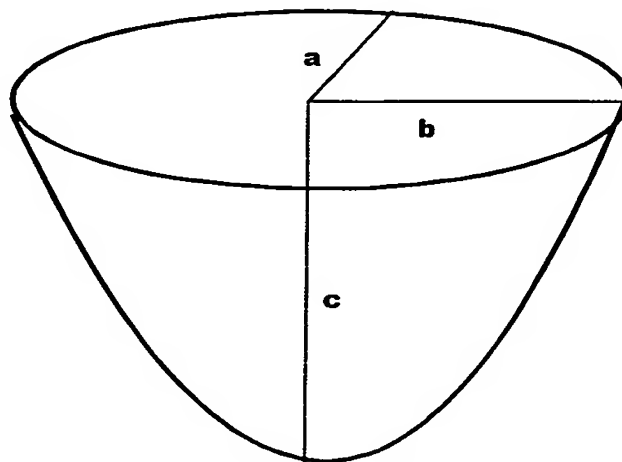


Abbildung 13: Definition der Bestimmungsgrößen einer Halbellipse, zur Illustration des Meßvolumens, das von einem Lichtwellenleiter gebildet wird, bei Illumination eines streuenden Gewebes.

Bei halbelliptischer Annahme der Meßvolumina ergibt sich das effektive Meßvolumen entsprechen Abbildung zu:

$$V_{\text{Meß-eff}} = \frac{2}{3} \pi a b c$$

Die Bestimmungsgrößen der Ellipse a, b und c lassen sich durch die Berechnung der effektiven Eindringtiefen aus den Intensitätsgradienten ermitteln. Aufgrund der Rotationssymmetrie der Illumination kann

$$a = b = x_{\text{eff}},$$

der effektiven Eindringtiefe  $x_{\text{eff}}$  in lateraler Richtung gesetzt werden. Die Tiefe c läßt sich aus der effektiven Eindringtiefe in transversaler Richtung bestimmen und es wird

$$c = z_{\text{eff}}$$

über die effektive Eindringtiefe in z-Richtung, die senkrecht in das Gewebe gerichtet sein soll, bestimmt.

### 3.4.5 Bestimmung der meßvolumen bezogenen Hämoglobinkonzentration $Hb_{\text{conc/Vol}}$

In der Arbeit von A. Krug (2/98) wurde vorgestellt, daß das Meßvolumen verringert wird, bei ansteigender Absorberkonzentration. Korrigiert man die gemessenen Rückstreuextinktionswerte gegen das jeweils verringerte Meßvolumen,

$$Hb_{\text{conc}} = K_{\text{Gewebe}} \cdot \frac{\sum_{\lambda=500nm}^{650nm} \log \frac{I'_o}{I}}{\frac{2}{3} \pi x_{\text{eff}} x_{\text{eff}} z_{\text{eff}}}$$

so läßt sich zeigen, daß man auch bei Messungen in stark streuenden Medien einen linearen Zusammenhang erhält zwischen Absorbermenge in der Streususpension und den auf das aktuelle Meßvolumen bezogenen Extinktionswert.

## 3.5 Bestimmungsgrößen, die mit dem Pulsoximeter zu bestimmen sind

### 3.5.1 Spektroskopische Bestimmung der arteriellen Sättigung des Hämoglobins

In einem ersten Ansatz wird der arterielle Sättigungswert bestimmt über das übliche Pulsoximeterverfahren mit der Auswertung von mindestens zwei Wellenlängen, wobei ein pulssynchrones Differenzsignal des Herzschlages gebildet wird. Vorzugsweise sollten diese Wellenlängen so ausgewählt werden, daß auch diese arteriellen Werte tiefenselektiv bestimmt werden können und so, daß bei diesen Wellenlängen additiv die Leistung der monochromatischen als auch der Breitbandlichtquelle zum tragen kommen. In einem ersten Ansatz wird das übliche Pulsoximeterverfahren in den integrierten Sensorkopf mit einbezogen.

### 3.5.2 Spektrometrische Bestimmung der arteriellen Sättigung des Hämoglobins

Ein neuer Ansatz ist, die arterielle Sättigung über die breitbandigen Rückstreupektren des Gewebephotometers zu bestimmen. Das Gewebephotometer erlaubt über das oben beschriebene Verfahren zur Bestimmung der Sättigung des Hämoglobins die Berechnung der aktuellen Sättigung

des Hämoglobins im Meßvolumen. Über ein besonders schnelles Photometer mit Abtastzeiten im Bereich von 1-10 ms pro Wert ist es möglich die pulssynchronen Änderungen der Sättigung zu erfassen. Das Gewebephotometer erfaßt immer einen Mittelwert, entsprechend dem Volumenmischungsverhältnis von arteriellen und kapillar-venösen Sättigungswerten.

In Folge des systolischen Blutdruckes erhält man im Gewebe einen Anstieg des Blutflusses und des Blutvolumens. Entsprechend der Theorie der Pulsoximetrie wird zu diesem systolischen Blutvolumenanstieg frisches, vollständig gesättigtes, arterielles Blut in das Gewebe geschoben. Hieraus resultiert auch in der Summe eine höhere Sättigung des Blutes im Meßvolumen des Gewebephotometers. Bestimmt man nun die systolischen Blutvolumenaddition das diastolische Blutvolumen und die Sättigung während der Systole und Diastole, so läßt sich mit der umgestellten Mischungsgleichung (Gleichung 1, 2) die arterielle Sättigung bestimmen.

$$SO_2 \text{ Misch. Syst.} \cdot Hb_{\text{Menge Misch. Syst.}} = SO_2 \text{ art.} \cdot \Delta Hb_{\text{Menge art.}} + SO_2 \text{ Diast.} \cdot Hb_{\text{Menge Diast.}}$$

$$SO_2 \text{ art.} = \frac{SO_2 \text{ Syst.} \cdot Hb_{\text{Menge Syst.}} - SO_2 \text{ Diast.} \cdot Hb_{\text{Menge Diast.}}}{\Delta Hb_{\text{Menge art.}}}$$

In Abbildung 4 sind zwei Beispielspektren gezeigt. Das zu 80 % gesättigte Spektrum entspricht einem Zustand am Ende der Systole, wenn der Gehalt an frischem sauerstoffreichen Blut größer ist als zur Zeit des Intervalls der diastolischen, langsameren Durchblutung, während der die Sättigung im wesentlichen der kapillar-venösen Sättigung entspricht.

Das Blutvolumen  $\Delta Hb_{\text{Menge, art.}}$  wird gebildet aus der Differenz der Blut- bzw. Hämoglobinbestimmung zum end-systolischen und end-diastolischen Zeitpunkt. Auch hier kommt das Verfahren zur Hämoglobinbestimmung, wie oben beschrieben, zur Anwendung.

Die Sättigung  $SO_2 \text{ syst.}$  und  $SO_2 \text{ diast.}$  werden ebenso wie oben beschrieben mit der Kurvenauswertung der Gewebespektren bestimmt.

Das Pulsoximeterverfahren sollte jedoch auch aus dem spektrometrischen Datensatz als pulssynchrones Differenzsignal bestimmt werden, um durch die stark verbreiterte Datenbasis validere Aussagen ziehen zu können.

Besonders interessant ist die Auswertung des Differenzsignals der spektrometrischen Daten, da dieses Differenzsignal bezogen werden kann auf den kapillär-venösen Basiswert und somit erstmals ein quantitativer arterieller Sauerstoffsättigungswert bestimmbar wird ( siehe Abbildung 14)

14.3.12.99

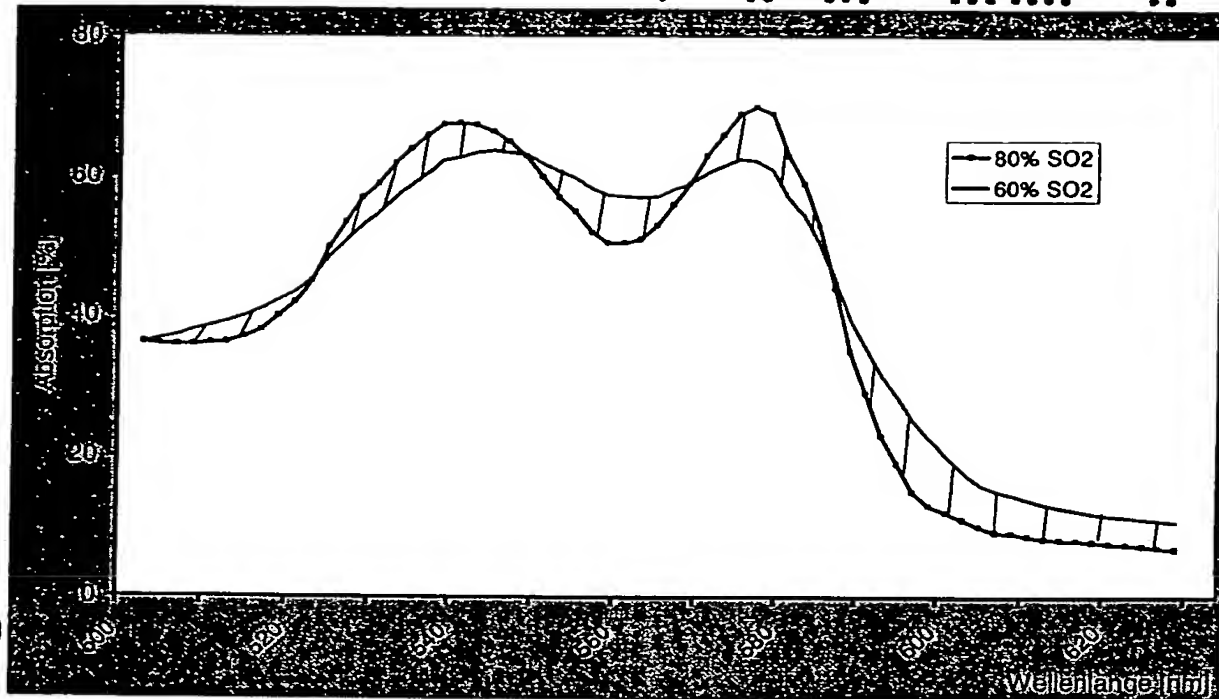


Abbildung 14: Differenzsignal während der pulssynchronen Änderung der Spektren, unter der Annahme konstanter Hämoglobinkonzentration im Meßvolumen.



#### 4 Patentansprüche:

1. Optischer Sauerstoffsensor für lokale Gewebemessungen  
Innovative, rein optisch arbeitender Sauerstoffsensor. Durch Anordnung der spektroskopischen zugleich mit spektrometrischen und pulsationsauflösenden spektroskopischen und spektrometrischen optischen Meßmethoden (Laser-Doppler-Spektroskopie, Gewebespektrometrie, Gewebespektroskopie und Pulsoximetrie) entsprechend Abbildung 1 integriert in einen gemeinsamen Sensor, mit dem Ziel eine neue, lokale Meßgrößen bestimmen zu können, die nur durch die gewählte Kombination der optischen Meßmethoden möglich ist. Die neuen lokalen, in durchbluteten Geweben bestimmbaren Sauerstoffparameter sind, entsprechend Tabelle 1:
  - a) der lokale Sauerstoffgehalt,
  - b) der lokale Sauerstoffverbrauch in arteriell-venös gemischtem Gewebe,
  - c) die Sauerstoffverbrauchsrate in arteriell-venös gemischtem Gewebe,
  - d) der Sauerstoffumsatz in arteriell-venös gemischtem Gewebe,
  - e) die Sauerstoffumsatzrate in arteriell-venös gemischtem Gewebe und schließlich
  - f) die lokale Sauerstofftransportkapazität
  - g) die lokal transportierte Sauerstoffmenge
2. Energetischer Metabolismus Sensor für das Monitoring des lokalen Stoffwechsels  
Erstmals läßt sich mit dem integrierten, rein optischen, nicht invasiven Methoden über den O<sub>2</sub> Antransport und Umsatz der energetische Metabolismus der Zellen evaluieren.
3. Tiefenselektivität der spektrometrischen Gewebemessungen  
Durch die Kombination der Auswahl des Wellenlängenbereichs von 500 bis 650 nm und der Lichtleiterseparation kleiner 2 mm sind selektiv oberflächennahe Messungen möglich. Durch die Auswahl des Wellenlängenbereichs von 650 bis 900 nm zusammen mit Lichtleiterseparationen größer 2 mm sind Messungen im Makrovolumen und in großen Detektionstiefen möglich.
4. Verfahren, die entwickelt wurden für den integrierten Sensor, um von einer Blutparametermessung zu einem O<sub>2</sub>-Sensor zu gelangen.
  - a) Meßvolumenbezogene Bestimmung der lokalen Hämoglobinkonzentration
    - Bestimmung des Meßvolumens aus Messungen der Oberflächengradienten, Bestimmung von gewebespezifischen Übertragungsfunktionen von x- zu z-Gradienten, siehe Abbildung 4, der daraus resultierenden Meßvolumenbegrenzung durch die Definition der 90% Detektionstiefe und 3D Berechnung der Meßvolumens.
    - Bestimmung des lokalen Hämoglobinabsorptionswertes und hieraus der lokalen Hämoglobinkonzentration, siehe Kapitel 3.4.2., mit Oxygenierungskorrektur der Absorptionswerte und Normierung der Meßspektren auf das generierte Gewebegrund-Streuspektrum, durch den Bezug des errechneten Gewebegrund-Streuspektrums auf eine Wellenlänge mit vernachlässigbar kleinem Absorptionskoeffizienten.
  - b) Erweiterung des Gewebemodells der Lichtstreuung und -Absorption zur Sättigungsbestimmung des Hämoglobins mit Sauerstoff auf Gewebegrundspektren (z. B. auch Cytochromspektren, Myoglobinspektren, Bilirubinspektren, Melanin und weitere Gewebeabsorber), die hämoglobinfrei zu ermitteln und dann in das Gewebemodell zu integrieren sind.
5. Pulsoximeterauswertung aus spektralen Datensätzen zur Bestimmung eines absoluten arteriellen Sättigungswertes des Hämoglobins, zusammen mit einer quantitativen Bestimmung von diastolischen und systolischen lokalen Hämoglobinmenge bzw. eines Blutvolumens und einer pulsauflösenden O<sub>2</sub>-Sättigungsbestimmung.

M 31012-99

6. Zweischnittmodell bestehend mindestens einer Schicht zu untersuchendes Streumedium (Suspension oder Gewebe) angeordnet über einem totalen Absorber (schwarzes Loch, z. B. Tinte) zur Bestimmung der 90 % Detektionstiefe.